

## A *Beijerinckia* genuszhoz tartozó N-kötő baktériumok előfordulása Kuba talajaiban. I.

FERNANDEZ, C.

*Havannai Egyetem, Biológiai Kar,  
Mikrobiológiai Osztály, Havanna, (Kuba)*

A talajban szabadon élő N-kötő mikroszervezetek között különös érdeklődésre tartanak számot a *Beijerinckia Derr* genuszba tartozó fajok, melyek fokozott tevékenysége jelen ismereteink szerint csupán bizonyos trópusi talajokra szorítkozik, míg a mérsékelt égöv talajaiban csak szórványos előfordulásukat (és feltehetően mindössze passzív jelenlétüket) lehetett megállapítani (ALEXANDER [1], DÖBEREINER és RUSCHEL [4], ANDERSON [2]). Az általában kozmopolitának ismert talajmikrobák körében hasonló, elterjedésükben csupán meghatározott földrajzi övezetekre szorítkozó szervezetek mind ez ideig még nem váltak ismeretessé. [7].

Minthogy Kuba talajaiban a *Beijerinckia* típusú N-kötő mikroszervezetek jelentős szerepet játszhatnak a termőképesség biológiai szabályozásában, 1972-ben vizsgálatokat indítottunk a *Beijerinckia* populációk faji összetételének megállapítására, talajtípusonkénti lokalizációjuk és mennyiségi előfordulásuk felderítésére. E munkálatok bevezetőjéül alant néhány reprezentatív kultúrán végzett részletes összehasonlító rendszertani vizsgálat eredményét mutatjuk be.

A meghatározásoknál HILGER [6] 1965-ben közzétett összefoglaló tanulmányát tekintettük alapnak.

### Vizsgálati anyag és módszer

A bemutatott törzseket Matanzas tartomány „latosolico” típusú vörös talajainak „A” horizontjából VINOGRADSKY módszere alapján preparált szilikagél lemezekon izoláltuk.

A szelektív tápközeg, melyet a talajszuszpenzióval izolált lemezek tartalmaztak az alanti összetételű volt:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,02%;  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0,02%;  $\text{MgSO}_4$  0,02%;  $\text{FeSO}_4$  0,02%;  $\text{NaCl}$  0,05%; glukóz 2%; standard mikroelemoldat 1 ml/l. Az izolált törzseket hasonló tápösszetételű agar lemezekon szélesztettük.

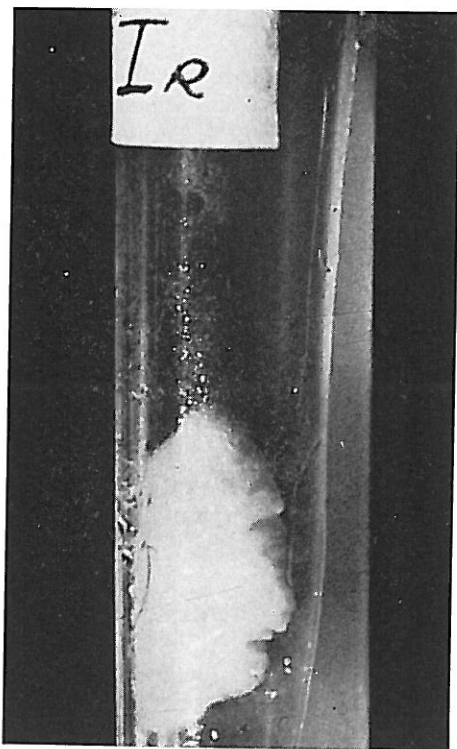
A tiszta kultúrákat a konvencionális eljárások előírásainak megfelelően fiziológiai és kulturális teszteknek, továbbá fény és elektronmikroszkópos sejtmorfológiai megfigyeléseknek vetettük alá. A mikrobiológiai analízisek tárgyát képező talajok rendszertani azonosítását és fizikokémiai vizsgálatát a Kubai Tudományos Akadémia Talajtani Intézete Kémiai Osztályának munkatársai végezték el.

## A törzsek leírása

- A tanulmányozott hat törzs három „latosolico” változathoz származott:
1. „*Latosolico plastico*” (pH 6,07): három törzs „IL”, „IR” és „IP” jelzéssel.
  2. „*Latosolico tipico*” (pH 6,05): Két törzs „IIA” és „IIB” jelzéssel.
  3. „*Latosolico hidratado*” (pH 5,63): egy törzs „III” jelzéssel.

1. *Beijerinckia laticogenes* (Kauffmann et Toussaint) Tchan IL-törzs

Szilikagél lemezeken sima, fénylő, hatalmasan fejlett, nyálkás világos sárga kolóniákat képez. Agar tápközegek felületén általában az átoltást követő 10 nap után indul meg az erőteljes fejlődés, amely kerek, feldomborodó, magas, szabályos szegélyű és mintegy 7 mm átmérőjű fehéres sárga kolóniák létrejöttéhez vezet. A sejtek, melyek mérete  $1,6-3,2 \times 0,48 \mu$  között ingadozik, jellegzetesen befűződöttek, kettőssejt alakúak (mely egyébként elsőrendű bélyeg a *Beijerinckia* genuszhoz tartozás megítélésénél), gram negatívak és nem mozgékonyak. Az IL törzs folyékony tápközegben növeli annak viszkozitását, gyűrűt képez a szegélyeken és gyengén csökkenti a közeg pH értékét. Szintetikus tápközegben egyedüli C-forrásként értékesíti a glükózt, laktózt, szacharózt, galaktózt, keményítőt, Na-benzoátot és -citrátot. Nem értékesíti a Na-tartarátot és Na-acetátot.



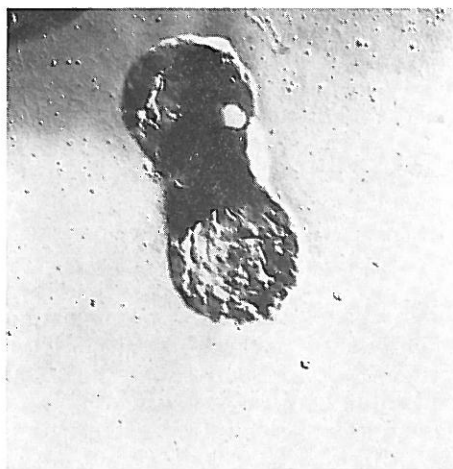
1. ábra

*Beijerinckia indica* IR jelzésű törzs tenyésztete szintetikus nitrogén deficiens agar tápközegen 15 napos inkubáció után 30 °C-on

2. *Beijerinckia indica* (Starkey et De) Derx IR-törzs

Szilikagél lemezeken e törzs kolóniái erősen gyűrődött felületűek, sárgás színűek, nyúlós konzisztenciájúak. Agar tápközegen az inokulációt követő tizedik napon a kolóniák mintegy 8 mm átmérőt érnek el, lekerekedettek, feldomborodóak, sima felületűek, sárgás színűek és rendkívül nyúlósak (1. ábra). Fejlődésük megindulásához 3–4 nap inkubációs idő szükséges. A sejtek mérete  $1,6-3,2 \times 0,8 \mu$  bár kivételesen elérhetik a  $4,8 \times 0,8 \mu$ -t is, formájukban kettőssejtek (2. ábra), de néha egyszerűen kokkusz alakúak. Gram negatívak, aktív mozgást végeznek. Folyékony szintetikus tápközegben növekedve fokozzák annak viszkozitását és erősen csökkentik

pH értékét egészen pH 2,0-ig. A lombik falán e törzs gyűrűt nem képez. Az IR törzs egyedüli C forrásként értékesíti a glükózt, laktózt, szacharózt, galaktózt, keményítőt és glicerint. A Na-benzoát és Na-citrát értékesítése kétes, míg tartaráton és acetáton nem növekedik.



2. ábra

Jellegzetes kettőssejt a *Beijerinckia indica* IR jelzésű törzsének szintetikus nitrogén deficiens agar tenyésztéséből 15 nap tenyésztés után 30 °C-on. Elektronmikroszkópos felvétel

### 3. *Beijerinckia indica* (Starkey et De) Derx IP-törzs (atípusos)

Szilikagél lemezeken lapos telepek alakjában növekedik. E kolóniákra a szabálytalan telepszegély és a szintelentől fehéres árnyalat a jellemző. Szintetikus agar tápközegen tenyésztve az átoltás utáni 10-ik napon a kolóniák áttetszően sárgás színűek, átmérőjük 1—1,5 mm. Kerek, feldomborodó, csekély mértékben nyálkásak. A sejtek gram negatívak, mozgékonyak, méretük  $1,6—3,2 \times 0,48 \mu$  között ingadozik. A tápközegben oldódó, sárgás pigmentet képez. Az IP törzs glükóz, laktóz, szacharóz, galaktóz, keményítő és glicerin pozitív. Na-citrát, -tartarát és acetát negatív. A növekedés és értékesítés Na-benzoát esetében kétes.

### 4. *Beijerinckia lacticogenes* (Kauffmann et Toussaint) Tchan II A törzs

Szilikagél lemezeken feldomborodó, erősen nyálkás zöldessárga kolóniák, szabályos lefutású szegéllyel. A telepek színanyaga átdiffundál a tápközegbe. Szintetikus agar tápközegen 10 napos tenyésztés után 5—6 mm átmérőjű, világos sárga, kerek, feldomborodó, fénylő, szabályos szegélyű, nyálkás kolóniák alakjában növekedik. Viszonylag gyors fejlődésű. A sejtek  $0,96—2,4 \times 0,8 \mu$  méretet érnek el; gram negatívak; nem mozgékonyak. Folyékony tápközegben erős viszkozitást előidézve fejlődik, míg a felületen gyűrűképződés

figyelhető meg; a közeg pH értékét fokozatosan csökkenti. Értékesíti a glükózt, laktózt, szacharózt, galaktózt keményítőt, glicerint, Na-benzoátot és -tartarátot, míg Na-citrát és Na-acetát jelenlétében nem növekedik.

5. *Beijerinckia lacticogenes* (Kauffmann et Toussaint) Tchan II B törzs

Szilikagél lemezeken fehéres színű, nagy, kiterjedő, hullámos szegélyű, nem magas, gyengén nyálkás kolóniákat képez. Agar tápközegen kerek, konvex, sima, szabályos szegélyű, csillogó, nyálkás, sárgás színű kolóniák. Átmérőjük eléri a 7 mm-t. Fejlődése lassú. A sejtek általában kokkusz alakúak, méretük  $0,2-1,6 \times 0,18-0,8 \mu$ . Gram negatívak és mozgékonyak. Értékesíti a glükózt, laktózt, szacharózt, galaktózt, keményítőt és a Na-benzoátot. Nem növekedik glicerinen, Na-citráton, -tartaráton és -acetáton.

6. *Beijerinckia indica* (Starkey et De) Derx III törzs

Szilikagél lemezeken világos sárga, közepes méretű és viszonylag kemény konzisztenciájú telepeket fejleszt. Agar tápközegen 10 napos inkubáció után mattfényű, 2–3 mm átmérőjű kolóniákat képez. Ezek kerek, szabályos szegélyűek és nyálkásak. A sejtek gyakran kokkusz alakúak, átmérőjük általában  $0,3-1,6 \times 0,16-0,8 \mu$  között ingadozik; mozgékonyak. Sárgászöld pigmentet képez, amely a közegbe diffundál át. Folyékony tápközegben fokozza annak viszkozitását és aciditását. Gyűrűképződés nem tapasztalható. Jól növekedik glükózon, laktózon, szacharózon, galaktózon, keményítőn és glicerinen. Nem értékesíti a Na-benzoátot, Na-citrátot, Na-tartarátot és Na-acetátot.

### Megbeszélés

Az általunk tanulmányozott reprezentatív kultúrák húskivonaton vagy más komplex N-forrás jelenlétében nem képesek növekedni, viszont kitűnően értékesítik a közeghez adott Na-nitrátot. A törzsek N-kötő aktivitását a beijerinckiai N-kötésére vonatkozó irodalmi adatokkal hasonlítottuk össze. BECKING [3] azt találta, hogy a *B. indica* törzsek maximum 7,3 mg N/25 ml medium megkötésére voltak képesek, míg a *B. mobile* 1-es számú törzse 6,0 mg N/25 ml táptalaj kötését tanúsította. HILGER [3] adatai szerint a *B. indica* általa vizsgált törzse 4,65 mg N/50 ml medium kötésére volt képes. A *B. derxii* maximálisan 2,62 mg N/50 ml medium, a *B. congensis* 2,20 mg N/50 ml médium N-kötési aktivitásra volt képes. A mi izolatumaink közül a *B. lacticogenes* IL törzs 31 napos inkubáció után 11,0 mg N/50 ml tápközeg, a *B. indica* IR törzs 15,1 mg N/50 ml tápközeg, a *B. lacticogenes* IIA törzs 3,5 mg N/50 ml tápközeg és a *B. indica* III törzs 4,55 mg N/50 ml tápközeg nitrogén kötési aktivitást mutatott. Két törzs (IP és IIB) N kötése nem volt megállapítható, ezeket deficiens *Beijerinckia* kultúráknak tekinthetjük, mivel egyéb tekintetben e genusz, ill. a megadott fajok karakter tulajdonságait mutatják.

## Összefoglalás

Kuba talajaiból izolált *Beijerinckia* törzsek hat reprezentatív kultúráját részletes taxonómiai vizsgálatoknak vetettük alá. HILGER [6] 1965-ben közzétett rendszerét figyelembe véve taxonómiai helyzetüket a következők szerint határoztuk meg: Az IL, IIA és a IIB jelzésű törzsek a *B. lacticogenes* alakjai, míg az IR, III és az IP törzsek a *B. indica* fajhoz tartoznak. Az IP és a IIB törzsek N-kötését nem lehetett detektálni és ezeket a kérdéses fajok deficiens kultúráinak tekintjük.

Ezúttal mondok hálás köszönetet Francisco Fernandeznek, a Tudományos Akadémia Talajtani Intézete (Kuba, La Habana) munkatársának vizsgálatainkhoz nyújtott értékes segítségéért.

## Irodalom

- [1] ALEXANDER, M.: Introduction to Soil Microbiology. Wiley, New York. 1965.
- [2] ANDERSON, G. R.: Identification of *Beijerinckia* from Pacific north-west soils. J. Bact. **91**. 2105—2106. 1966.
- [3] BECKING, J. H.: Studies on nitrogen fixing bacteria of the genus *Beijerinckia*. Plant and Soil. **14**. 49—81. 1961.
- [4] DÜBEREINER, J. & RUSCHEL, A. P.: Methods for the study of *Beijerinckia*. Soil Biol. Intern. News Bull. New Ser. **1**. 3—5. 1964.
- [5] HILGER, F.: Comportement des bactéries fixatrices d'azote du genre *Beijerinckia* à l'égard du pH et du calcium. Ann. Inst. Pasteur. **106**. 279—291. 1964.
- [6] HILGER, F.: Etudes sur la systématique du genre *Beijerinckia* Derx. Ann. Inst. Pasteur. **109**. 406—423. 1965.
- [7] SZABÓ, I. M.: Microbial Communities in a Forest-Rendzina Ecosystem. Akad. Kiadó. Budapest. 1974.

Érkezett: 1974. április 18.

## Occurrence of *Beijerinckia* in the Soils of Cuba I. Identification of some Representative Cultures

C. FERNANDEZ

Department of Microbiology, School of Biological Sciences, University of Havana (Cuba)

Bacteria belonging to the genus *Beijerinckia* Derx — free-living nitrogen fixing organisms of great pedological importance — are widely distributed in various soils of Cuba. The results of detailed comparative systematic studies on six representative cultures show that they are the strains of species *B. indica* (STARKEY et DE) Derx and *B. lacticogenes* (KAUFFMANN et TOUSSAINT) Tchan. Further investigations about the distribution of these organisms in the different soil types of Cuba are in progress.

Fig. 1. Growth of strain IR of *B. indica* on synthetic N-deficient agar medium after incubation at 30 °C for 15 days.

Fig. 2. A characteristic double cell in the culture of strain IR of *B. indica* on N-deficient agar medium, after incubation at 30 °C for 15 days. Photo taken by electron microscope.

**Presencia de los bacterios fijadores de nitrogeno pertenecientes al  
genero *Beijerinckia*, en los suelos cubanos  
I. Identificación de algunas cepas**

C. FERNANDEZ

Escuela Biológica, Universidad de la Habana (Cuba)

Fueron aislados de suelos cubanos bacterios del genero *Beijerinckia* y se llevaron a cabo investigaciones taxonomicas con 6 cepas representativas. En base de la clasificación de HILGER [6] resulto que las cepas IL, IIA, y IIB pertenecen al especie *Beijerinckia lacticogenes*, mientras que las cepas IR, III y IP son identicas con la *Beijerinckia indica*. No se pudo observar fijación de nitrogeno por las cepas IP, y IIB y por lo tanto los consideramos cultivos deficientes de los especies correspondientes.

*Figura 1.* Cepa IR del especie *Beijerinckia indica* en medio de cultivo sin nitrogeno despues de 15 dias de incubación a la temperatura de 30 °C.

*Figura 2.* Celula doble tipica de la cepa IR del especie *Beijerinckia indica* en medio de cultivo sintetico sin nitrogeno despues de 15 dias de incubación a la temperatura de 30 °C. Foto microscopico electronico.

**Азотофиксирующие бактерии, относящиеся к роду  
*Beijerinckia* встречающиеся в почвах Кубы  
I. идентификация некоторых штаммов**

К. ФЕРНАНДЕЗ

Гаванский Университет, Биологический факультет, Кафедра микробиологии, Гавана (Куба)

Провели подробное таксономическое изучение культур рода *Beijerinckia* выделенного из кубинских почв. Принимая во внимание систему HILGER [6] определили их таксономическое место: штаммы обозначенные IL, IIA, IIB относятся к *B. lacticogenes* штаммы IR, III и IP к виду *B. indica*. Не могли установить связывание азота штаммами IP и IIB поэтому мы считаем эти штаммы азото-дефицентными культурами.

*Рис. 1.* Культура штамма *Beijerinckia indica* IR после 15 дней инкубации на безазотной питательной среде при температуре 30 °C.

*Рис. 2.* Характерная двойная клетка штамма *Beijerinckia indica* IR после 15 дней инкубации на безазотной синтетической питательной среде при температуре 30 °C. Снимок сделан под электронным микроскопом.